

УДК 547.262 :615.2

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НОВЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРА МОЛИКСАН ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ ЭТАНОЛОМ

Д.А. Халютин¹, А.А. Ховпачев¹, А.Н. Гребенюк¹,
В.Л. Рейнюк¹, А.Е. Антушевич¹, А.А. Колобов²

¹Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства России, 197110, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Представлена сравнительная оценка эффективности новых пептидных препаратов с общей структурой Acetyl-Lys-Lys-Arg-Arg-amide (шифр КК) и моликсана в качестве средств коррекции нарушений функций центральной нервной системы, развивающихся в токсикогенную и соматогенную стадии интоксикации этанолом у крыс. Этанол вводили внутривентрикулярно в дозе 1 ЛД₅₀ (8 г/кг). Пептиды КК₁ и КК₁₀ вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг, моликсан – внутривентрикулярно в дозе 30 мг/кг через 30 мин после начала интоксикации. Установлено, что этанол в дозе 1 ЛД₅₀ в токсикогенную стадию интоксикации нарушает функции центральной нервной системы и приводит к гибели 44% животных, а в соматогенную – вызывает нарушения памяти, процессов обучения и моторики выживших крыс в течение двух недель от начала интоксикации. При коррекции острой алкогольной интоксикации пептидными препаратами КК₁ и КК₁₀ выживаемость крыс составила 100%, при использовании моликсана – 88%. Кроме того, лечебное введение пептидов КК₁ и КК₁₀ позволяло избегать возникновения состояний, классифицируемых как «кома», и оказывало антиамнестический эффект. Применение пептидов линии КК и моликсана ускоряет темпы восстановления обучаемости, физической выносливости и координации движений отравленных животных в 1,5-2 раза.

Ключевые слова: этанол, отравление, лечение, пептиды, выживаемость, функции центральной нервной системы.

Введение. Благодаря активным мерам, принимаемым государством по сокращению потребления алкогольной продукции, уровень потребления этанола в нашей стране постепенно снижается: по данным Росстата, средний по Российской Федерации объем продаж населению ликероводочных изделий в 2013 г. и первом квартале 2014 г. в абсолютных цифрах составляет 9,1 л на душу населения, что меньше данного показателя предыдущих лет (в 2011 г. – 13,2 л) [4,18].

В результате снижения уровня потребления этанола прослеживается положительная динамика количеств острых отравлений относительно прошлых лет: в 2013 г. удельный показатель острых отравлений от спиртосодержащей продукции составил 36 случаев на 100 тыс. населения (в 2012 г. – 38,8; в 2011 г. – 43,8), в том числе с летальным исходом 9,4 случая на 100 тыс. населения (в 2012 г. – 10,1; в 2011 г. – 11,0) [9,10,18]. В общем, с 2011 по 2013 гг. на территории страны

Халютин Денис Александрович (Halyutin Denis Aleksandrovich), адъюнкт при кафедре военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, hal-denis81@yandex.ru

Ховпачёв Алексей Андреевич (Hovpachev Alexey Andreevich), слушатель факультета подготовки врачей Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, kmkk2005@rambler.ru

Гребенюк Александр Николаевич (Grebenuk Aleksandr Nikolaevich), доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, grebenuk_an@mail.ru

Рейнюк Владимир Леонидович (Reynuk Vladimir Leonidovich), доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, vladton@mail.ru

Антушевич Александр Евгеньевич (Antushevich Aleksandr Evgenyevich), доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории военной терапии научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, mantushevich@mail.ru

Колобов Александр Александрович (Kolobov Aleksandr Aleksandrovich), доктор биологических наук, заведующий лабораторией химии пептидов Государственного научно-исследовательского института особо чистых биопрепаратов ФМБА России, 197170, г. Санкт-Петербург, kolobov@hpb-spb.com

зарегистрированы 169 792 случая острых отравлений спиртосодержащей продукцией, что составляет 41,2% от числа всех отравлений, в том числе 43 626 случаев (25,7 %) – с летальным исходом [7, 18]. Кроме того, потери от острых отравлений этанолом из-за косвенных последствий его употребления, при диагностике которых наличие отравлений этанолом статистически регистрируется не всегда (например, коморбидная соматическая патология), в России могут достигать 400 тыс. человек в год [3,6].

Несмотря на снижение количества острых отравлений этанолом, смертность на догоспитальном этапе остается высокой [2,12]. Особенную озабоченность вызывает то, что после перенесенной острой тяжелой интоксикации этанолом у значительного количества пациентов сохраняются остаточные явления и отдаленные последствия, связанные с нарушением функции центральной нервной системы (ЦНС), что обуславливает большие сроки пребывания в стационаре [8]. Из этого следует, что продолжение поиска эффективных средств для терапии острых отравлений этанолом, способных повлиять на течение токсикогенной и соматогенной стадии интоксикации является актуальным направлением для токсикологии.

В ряде исследовательских работ в качестве средств, корректирующих функции ЦНС, которые нарушаются уже в самом начале интоксикации этанолом, использовались пептидные препараты [1,8,12,20]. Интерес фармакологов и токсикологов к препаратам данной группы объясняется их высокой активностью при использовании в малых дозах, отсутствием выраженных побочных эффектов, феноменов привыкания и отмены при относительно длительном курсе лечения, возможностью интраназального введения [23,24]. Независимо от того, что к настоящему времени применение пептидов является общемедицинской тенденцией, данные об эффективности различных пептидов в терапии интоксикаций этанолом ограничены и требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования: экспериментальная оценка эффективности пептидных препаратов линии КК и моликсана в терапии острых тяжелых отравлений этанолом.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование выполнено на 50 белых нелинейных крысах самцах массой 180–220 г питомника лабораторных животных «Рапполово» (пос. Рапполово Ленинградской обл.).

При проведении исследования выполнялись рекомендации по экспериментальному изучению новых фармакологических средств и требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных,

в том числе по гуманному отношению к ним [19].

Этанол (этиловый спирт, C_2H_5OH) в виде 40% раствора вводили внутривенно при помощи зонда в дозе 1 ЛД₅₀ (8 г/кг). В связи с большим объемом вводимого раствора указанную дозу делили поровну на два введения через 15 мин.

В работе были использованы пептидные препараты: КК₁, КК₁₀ и моликсан.

Субстанции КК₁ и КК₁₀ (ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, г. Санкт-Петербург) представляют собой порошкообразные лиофилизаты белого цвета. Данные субстанции относятся к классу пептидов, гомологичных по первичной последовательности участку 15–18 адренкортикотропного гормона: Acetyl-(D-Arg)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Lys)-amide (шифр КК₁) и Acetyl-(D-Arg)-(D-Arg)-(D-Lys)-(D-Lys)-amide (шифр КК₁₀). Лиофильно высушенные препараты КК₁ и КК₁₀ разводили в дистиллированной воде из расчета 0,2 мг/мл (0,02%) и вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг.

Моликсан представляет собой прозрачный или слабо окрашенный, без запаха или со слабым запахом уксусной кислоты 3% раствор производства ЗАО «Фарма ВМ» (г. Санкт-Петербург). Моликсан также относится к классу пептидных препаратов и представляет собой органическую соль, включающую инозин (пуриновый компонент) и глутатион (пептидный компонент) в соотношении 1:1. Официальный препарат разводили в физиологическом растворе и вводили в виде 0,3% раствора внутривенно в дозе 30 мг/кг.

Все изученные пептидные препараты вводили через 30 мин после начала интоксикации. Выбор доз и схемы введения фармакологических препаратов был осуществлен на основании данных литературы, инструкций и рекомендаций по применению [1,8,11,14]. Крысам контрольной группы в тот же временной промежуток в аналогичных объемах вводили интраназально и внутривенно физиологический раствор.

В токсикогенную стадию интоксикации у животных оценивали: выживаемость, неврологический статус, частоту дыхательных движений и температуру тела. Выживаемость оценивали при 3-х суточном наблюдении и выражали ее в процентах (%) по отношению к общему числу животных в группе. Частоту дыхательных движений (ЧДД) оценивали визуально путем подсчета количества дыханий за 1 мин. Для определения ректальной температуры тела использовали электронный медицинский термометр Microlife MT 3001. При оценке функции ЦНС в токсикогенную стадию интоксикации по критериям методики определения неврологических нарушений [2] помимо физиологической нормы у животных выделяли следующие состояния: 1) оглу-

шение, 2) сопор, 3) кома поверхностная, 4) кома глубокая, 5) кома терминальная.

Для исследования процесса восстановления в соматогенную стадию интоксикации использовали поведенческие методики: крестообразный лабиринт, вращающийся стержень, условная реакция пассивного избегания (УРПИ), условная реакция активного избегания плавания без предварительного обучения (УРАИ) [4,12].

Количество крыс в группах было выбрано с учетом их возможной гибели и было достаточным для проведения психофизиологического тестирования [4]. Тестирование животных проводили на 2, 5, 7, 14 сут после интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные подвергали стандартной статистической обработке на персональном компьютере с использованием программы «Statistica+ 2005» версии 3.5.0.5 для операционной среды «Windows». Среднюю ошибку альтернативных показателей определяли по таблицам Генеса. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m_x$ (m_x – ошибка среднего M). Достоверность различий средних значений показателей выживаемости и состояния функции ЦНС животных оценивали с использованием t -критерия Стьюдента для относительных величин. Для оценки достоверности различий данных, характеризующих витальные и психофизиологические функции животных, применяли U -критерий Манна–Уитни для абсолютных величин и критерий Фишера для относительных. Вероятность $p \leq 0,05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных данных [15, 16, 19].

Результаты и обсуждение. В токсикогенную

стадию интоксикации этанол в дозе 1 ЛД₅₀ вызывал у животных значительные нарушения функций центральной нервной системы, которые проявлялись постепенным снижением двигательной активности и защитного поведения, угнетением рефлексов переворачивания, сгибания конечностей, роговичного, корнеального и глоточного рефлексов, нарушением показателей витальных функций. Среднее время возникновения состояния комы после введения этанола составляло $80,7 \pm 8,8$ мин. Выживаемость составила 56%.

Лечебное применение пептидов линии КК полностью предупреждало дальнейшее развитие процесса нарушения функций ЦНС, при этом после введения пептидов животным дальнейшего развития неврологических нарушений не наблюдалось. Количество выживших крыс в группах «этанол+КК₁» и «этанол+КК₁₀» составило 100%. Применение моликсана также позволило снизить тяжесть интоксикации животных и повысить их выживаемость до 88% (табл. 1).

Установлено, что острое тяжелое отравление этанолом в дозе 1 ЛД₅₀ привело к значительному, по сравнению с группой контроля, снижению температуры тела и ЧДД, что объясняется типовыми патологическими процессами, возникающими при данном виде интоксикаций [3, 6, 13]. Введение КК₁, КК₁₀ и моликсана способствовало поддержанию температуры и частоты дыхания на протяжении 3 ч от начала интоксикации этанолом по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

При моделировании острого тяжелого отравления этанолом снижение умственной и физической деятельности у выживших животных наблюдали до 14 сут, хотя признаки комы нивели-

Таблица 1

Влияние пептидных препаратов на течение острой интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀ у крыс

Группа (число животных)	Неврологический статус после введения этанола, %					Время наступления комы, мин	Выживаемость, %
	оглушение	сопор	поверхностная кома	глубокая кома	терминальная кома		
Контроль (n=9)	100-11	100-11	100-11	78±14	56±18	80,7±8,8	56±18
Этанол+КК1 (n=6)	100-17	100-17	0+17*	0+17*	0+17*	-	100-17*
Этанол+КК10 (n=6)	100-17	100-17	0+17*	0+17*	0+17*	-	100-17*
Этанол+моликсан (n=8)	100-12	100-12	88±12	50±19	50±19	81,8±12,6	88±12

Примечание: – * – различие с группой «контроль» по t -критерию Стьюдента значимо, $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Влияние пептидных препаратов на витальные функции крыс через 1, 2, 3 ч после начала интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀

Группа (число животных)	Температура тела, °С			Количество дыхательных движений за 1 мин		
	Сроки наблюдения, ч					
	1	2	3	1	2	3
Интактные животные (n=6)	38,6±0,1	38,6±0,1	38,6±0,1	92±2	90±3	91±3
Контроль (n=9)	36,2±0,2*	35,3±0,2*	35,0±0,2*	94±3	73±5*	64±6*
Этанол+КК ₁ (n=6)	37,3±0,1*#	36,5±0,1*#	36,3±0,2*#	103±4*	104±4*#	97±5#
Этанол+КК ₁₀ (n=6)	37,1±0,1*#	36,9±0,2*#	36,7±0,1*#	114±3*#	112±6*#	103±4*#
Этанол+моликсан (n=8)	36,9±0,1*#	36,1±0,2*#	35,7±0,3*	96±4	87±4	75±13

Примечание:

* – различие с группой «интактные животные» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

– различие с группой «контроль» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$.

ровалось уже к концу вторых суток. Все пептидные препараты оказывали позитивное влияние на психофизиологические показатели крыс, подвергнутых острому крайне тяжелому отравлению этанолом.

Оценка способности к выработке условной реакции активного избегания плавания у предварительно нетренированных крыс позволила выявить динамику приобретения навыка избегания воды при повторных тестированиях реакции и, тем самым, изучить влияние этанола на процесс обучения экспериментальных животных. Интоксикация этанолом в дозе 1 ЛД₅₀ приводила к увеличению времени нахождения в бассейне (латентный период плавания) отравленных

крыс по сравнению с интактными животными на протяжении 7 сут после момента интоксикации.

Введение препаратов КК₁ и КК₁₀ ускоряло выработку рефлекса по сравнению с крысами, не получавшими пептидов. Необходимо отметить, что в этих группах, по результатам использованного теста, временные значения латентного периода плавания в бассейне на 7 и 14 сут после введения этанола не отличались от показателей интактных животных (табл. 3).

По показателю изменения латентного периода лечебное применение моликсана также было эффективно: на 2 сут данный показатель группы «этанол+моликсан» достиг нормальных значе-

Таблица 3

Влияние пептидных препаратов на длительность латентного периода плавания у предварительно необученных крыс после интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀, с

Группа (число животных)	Сроки наблюдения, сут			
	2	4	7	14
Интактные животные (n=6)	55,3±3,4	33,3±3,8	21,6±2,2	17,3±1,6
Контроль (n=5)	93,0±18,2*	56,4±12,3*	46,4±13,7*	25,0±6,1
Этанол+КК ₁ (n=6)	61,5±3,8#	31,8±2,0#	23,5±2,7	14,2±2,0#
Этанол+КК ₁₀ (n=6)	64,5±4,4#	27,9±4,5#	16,0±3,3#	15,5±1,6
Этанол+моликсан (n=7)	75,6±5,1#	37,8±1,7#	24,6±4,2	18,3±3,2

Примечание:

* – различие с группой «интактные животные» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

– различие с группой «контроль» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$.

ний, а на 4 сут отличался от группы «контроль» в 1,5 раза.

Использование теста «вращающийся стержень» позволило оценить наличие мышечной релаксации, нарушения равновесия и координации движений. Введение этанола в дозе 1 ЛД₅₀ значительно снижало время нахождения на вращающемся стержне.

В результате оценки степени корректирующего эффекта пептидных препаратов, по критерию времени удержания на вращающемся стержне, отмечаются достоверные различия по сравнению с группой «контроль», начиная со 2 сут интоксикации. Лечебный эффект был наиболее выражен при применении пептидов КК₁ и КК₁₀. Так, на 4 сут интоксикации достоверных различий между группами, получившими пептиды КК, и группой интактных животных выявлено не было. В группе, получившей моликсан, на 2 сут животные находились на стержне в среднем в 1,5 раза больше, по сравнению с группой «контроль» (табл. 4).

Интоксикация этанолом привела на 2, 4, 7 сут к снижению числа животных, избегавших «опасной» темной камеры в 4 раза, и уменьшению латентного периода (ЛП_x – ЛП₀) входа в темную камеру в 2–2,5 раза, по сравнению с группой интактных животных.

Введение пептидных препаратов повлияло на долговременную память животных в различной степени. По показателю разности латентных периодов КК₁ и КК₁₀ достоверно отличались от группы «контроль», при этом разницы с интактными животными выявлено не было, что позволяет предположить наличие у препаратов линии КК антиамнестического эффекта при коррекции этанольной интоксикации.

Моликсан также способствовал нахождению животных в «безопасной» камере, однако в несколько меньшей степени, чем пептиды линии КК. Так, на 2 сут после введения этанола латентный период перехода в темную камеру у крыс группы «этанол+моликсан» был в 2 раза больше по сравнению с животными контрольной группы (табл. 5).

При использовании методики «крестообразный лабиринт» систематически значимых изменений между группами, по которым можно было бы сделать определенное заключение о влиянии пептидов линии КК и моликсана на когнитивные функции крыс в постинтоксикационный период, выявлено не было, за исключением наличия «неассоциативного обучения», что было отмечено ранее [12].

В соответствии с классификацией токсикантов по «избирательной токсичности», представленной в Национальном руководстве «Медицинская токсикология», этанол относится к психотропным веществам, обладающим нейротоксическим действием [13]. В основе специфического действия этилового спирта на нервную систему лежит прямое и опосредованное повреждение им и его метаболитами плазматических и внутриклеточных мембран. Такие нарушения мембранных структур сопровождаются возникновением липид-липидных и липид-белковых «сшивок», изменением ориентации жирнокислотных остатков фосфолипидов, что приводит к изменению текучести биомембран, повышению их ионной проницаемости и нарушению функций рецепторных аппаратов нейронов [3,6,22]. Предполагается, что эти изменения и являются основой седативного и депримирующего действия этанола [2,17]. Ука-

Таблица 4

Влияние пептидных препаратов на время удерживания крыс на вращающемся стержне в различные сроки после интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀, с

Группа (число животных)	Сроки наблюдения, сут			
	2	4	7	14
Интактные животные (n=6)	162,6±7,0	157,0±6,1	170,8±6,1	159,8±10,1
Контроль (n=5)	48,8±6,0*	93,6±9,0*	115,6±12,8*	160,8±5,4
Этанол+КК ₁ (n=6)	97,8±14,3*#	165,0±8,4#	165,8±8,9#	169,3±5,5
Этанол+КК ₁₀ (n=6)	105,0±23,3*#	157,5±9,2#	170,0±6,4#	164,1±7,9
Этанол+моликсан (n=7)	75,1±12,7*	124,6±15,9	128,0±23,0	170,6±6,1

Примечание:

* – различие с группой «интактные животные» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

– различие с группой «контроль» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$.

Таблица 5

Влияние пептидных препаратов на изменение показателя латентного периода пассивного избегания (ЛП_x-ЛП₀) болевого раздражителя у крыс после интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀, с

Группа (число животных)	ЛП ₂ -ЛП ₀	ЛП ₄ -ЛП ₀	ЛП ₇ -ЛП ₀	ЛП ₁₄ -ЛП ₀
Интактные животные (n=6)	149,5±21,7	143,8±27,4	98,1±32,4	63,6±33,3
Контроль (n=5)	67,0±24,1*	51,6±25,9*	41,8±27,3*	8,8±6,0*
Этанол+КК ₁ (n=6)	136,5±25,0#	129,3±28,4#	76,0±30,6	62,5±34,4#
Этанол+КК ₁₀ (n=6)	158,8±11,8#	127,0±28,4#	110,0±34,7	89,8±36,7#
Этанол+моликсан (n=7)	124,6±23,9#	86,1±27,9*#	98,8±27,4	12,8±3,3*

Примечание:

* – различие с группой «интактные животные» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

– различие с группой «контроль» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$.

занные механизмы действия этанола послужили критериями выбора изучаемых пептидных препаратов, имеющих функционально антагонистические эффекты.

Влияние на течение тяжелой алкогольной интоксикации комбинированного препарата моликсана обусловлено его составляющими компонентами – окисленным глутатионом и инозином [1]. Глутатион восстанавливает процессы детоксикации продуктов метаболизма этанола и коррекции нарушений кислотно-основных процессов (активирует ферменты антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатион-пероксидазы), а так же восстанавливает ряд поверхностно-клеточных рецепторов, содержащих сульфгидрильные группы. Инозин, входящий в состав моликсана, поддерживает нарушенный энергетический клеточный обмен, так как при взаимодействии с фосфорной кислотой образует ряд соединений макроэргов [1,8].

Точный спектр механизмов действия пептидов линии КК в настоящее время полностью не изучен. Однако известно, что их эффекты на организм, подвергшийся интоксикации этанолом, могут быть связаны влиянием на текучесть синаптических мембран, модуляцию рецепторных функций, процессы фосфорилирования белков, торможением активации микроглии, избыточного синтеза нейротоксичных цитокинов и улучшением микроциркуляции во внутренних органах [14]. Ранее было показано, что пептиды линии КК оказывали стимулирующее влияние на холинергические процессы в головном мозге на примере скополаминовой модели амнезии [11].

Холинергические нейромедиаторные системы головного мозга вовлечены в регуляцию различных функций центральной нервной системы [5].

По мнению ряда авторов, механизмы угнетения сознания этанолом помимо нарушения нормального функционирования ГАМК- и глутаматергических комплексов непосредственно опираются и на холинергические рецепторные системы мозга [5,6,21,25].

Обнаруженные нами психофизиологические изменения у крыс, вызванные этанолом, были аналогичны выявленным другими авторами [12]. Установлено, что нарушения исследуемых психофизиологических функций у отравленных этанолом крыс сохраняются в течение 14 сут от начала интоксикации. При этом моликсан и пептиды линии КК улучшают исследуемые показатели начиная со 2 сут, а восстанавливают к 4–7 сут. Помимо положительного влияния на выживаемость, моликсан также оказывал адаптогенный эффект, который мог быть опосредован входящими в его состав окисленным глутатионом и инозином [1].

Пептиды линии КК также значимо повлияли на скорость восстановления психофизиологических параметров животных, что в свою очередь может быть связано с предполагаемыми механизмами их действия [11,14]. Известно, что уровень ацетилхолина в ответственных за память морфологических структурах коррелирует со степенью способности запоминать информацию, а в мозжечке – со степенью посталкогольной атаксии [26]. Пептиды линии КК способствовали сохранению долговременной памяти животными на протяжении 14 сут после интоксикации, что может быть расценено как антиамнестический эффект препаратов. Кроме того, введение данных пептидов способствовало нормализации и потенцированию ассоциативных процессов выработки рефлексов, которое было выявлено в методике УРАИ, а также

ускорению восстановления подвижности и равновесия.

По результатам эксперимента было установлено, что исследуемые пептидные препараты обладают нейропротекторной активностью, сохраняющейся даже в соматогенную фазу и постинтоксикационный период. Помимо влияния на ключевые звенья токсикодинамики этанола в начале интоксикации, механизм действия КК и моликсана может быть результатом активации пептидного каскада и образования в ходе их метаболизма других функционально активных пептидов [23].

Проведенное исследование показало полифункциональный характер действия препаратов линии КК и моликсана, свойственный большинству регуляторных пептидов, с установленной способностью пептидов улучшать процессы обучения и памяти после интоксикации [23].

Выводы. 1. Этанол в дозе 1 ЛД₅₀ вызывает в токсикогенную стадию интоксикации нарушение неврологического статуса, витальных функций и гибель 44% животных, а в соматогенную стадию – нарушение памяти, процессов обучения, физической выносливости и координации движений.

2. Лечебное применение пептидов КК₁ и КК₁₀ предотвращает развитие комы, способствует поддержанию температуры тела и частоты дыхательных движений, увеличивает выживаемость до 100% и сокращает сроки восстановления нарушенных функций ЦНС крыс в 1,5-2 раза.

3. Лечебное применение моликсана при интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀ увеличивает выживаемость животных до 88%, сокращает срок восстановления способности к обучению и физической деятельности в 1,5 раза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антушевич А. Е., Ярцева А. А., Гребенюк А. Н., Антонов В. Г. Влияние моликсана на активность окислительно-восстановительных процессов в слизистой оболочке полости рта экспериментальных животных при комбинированном химиолучевом воздействии. *Вестн. Росс. Воен.-мед. акад.* 2014; 1 (45): 152-155.
2. Бонитенко Е. Ю., Гребенюк А. Н., Башарин В. А., Иванов М. Б., Макарова Н. В. Оценка неврологического статуса при острой алкогольной интоксикации в эксперименте. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2010; 3: 300-303.
3. Бонитенко Ю. Ю., Нечипоренко С. П., ред. Острые отравления лекарственными и наркотическими веществами. СПб.: ЭЛБИ – СПб; 2010.
4. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Наука; 1992.
5. Головкин А. И. Механизмы фармакологической активности антидепрессивных средств, действующих на системы ГАМК и глутаминовой кислоты. *Биомед. журнал Medline.ru.* 2012, 14. Available at: http://www.medline.ru/public/pdf/13_014.pdf/ (дата обращения: 17.01.2015).
6. Головкин А. И. Отрезвляющие средства, изменяющие токсикодинамику этанола. *Биомед. химия.* 2013; 59 (6): 604-621.
7. Государственный доклад Федеральной службы по надзору в сфере

- защиты прав потребителей и благополучия человека «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2013 году». Available at: http://www.rosпотреbnadzor.ru/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya_sayta.pdf (дата обращения: 11.12.2014).
8. Гребенюк А. Н., Рейнюк В. Л., Халютин Д. А., Ховпачев А. А., Давыдова Е. В. Оценка эффективности пептидных препаратов в качестве средств коррекции нарушений функций центральной нервной системы, вызванных высокими дозами этанола. *Вестн. Росс. воен.-мед. акад.* 2014; 3 (47): 145-149.
9. Доклад Всемирной организации здравоохранения «Вопросы здравоохранения: алкоголь». Available at: http://www.who.int/topics/alcohol_drinking/ru/ (дата обращения: 27.01.2015).
10. Доклад Федеральной службы государственной статистики «Продажа алкогольных напитков в регионах Российской Федерации». Available at: <http://www.gks.ru/dbscripts/cbsd/dbinet.cgi?pl=2705014> (дата обращения: 20.11.2014).
11. Ковалицкая Ю. А., Садовников В. Б., Золотарев Ю. А., Наволоцкая Е. В. Стресс-протекторная активность синтетического пептида CH₂CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH₂ (протектина). *Биоорг. химия.* 2009; 35 (4): 493-500.
12. Лисицкий Д. С., Петров А. Н., Шевчук М. К. Фармакологическая кор-

- рекция нейротоксических поражений у белых крыс после тяжелой формы острой алкогольной интоксикации. *Токс. вестник.* 2013; 1: 19-23.
13. Лужинов Е. А., ред. Медицинская токсикология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
14. Наволоцкая Е. В., Колобов А. А., Кампе-Немм Е. А., Липкин В. М. Средство, обладающее антиишемической и антигипоксической активностью. Патент РФ, № 2356573; 2007.
15. Платонов А. Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. М.: Изд-во РАМН; 2000.
16. Прозоровский В. Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. 2007; 3-4: 2090 - 2120.
17. Маркизова Н. Ф., Епифанцев А. В., Башарин В. А. Молекулярный кислород и его активные формы в процессах токсикогенетики и токсикодинамики. СПб.: ВМедА; 2004.
18. Федеральная служба по регулированию алкогольного рынка «Потребление спиртных напитков». Available at: http://www.fsrar.ru/policy_of_sobriety/konceptcia (дата обращения: 20.11.2014).
19. Хабриев Р. У., ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005.
20. Jia X., Yan J., Xia J., Xiong J., Wang T., Chen Y. et al. Arousal effects of orexin

- A on acute alcohol intoxication-induced coma in rats. *Neuropharm.* 2012; 62 (2): 775-783.
21. Mathis K.W., Sulzer J., Molina P.E. Systemic administration of a centrally acting acetylcholinesterase inhibitor improves outcome from hemorrhagic shock during acute alcohol intoxication. *Shock.* 2010; 34 (2): 162-168.
22. Rico E.P., Rosemberg D.B., Senger M.R., de Bem Arizi M., Dias R.D., Souto A.A. et al. Ethanol and acetaldehyde alter NTPDase and 5'-nucleotidase from zebrafish brain membranes. *Neurochem. Int.* 2008; 52 (1-2): 290-296.
23. Sewald N., Jakubke H. Peptides: chemistry and biology. Wiley-VCH; 2002.
24. Shih-Jen T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4-10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome. *Med. Hyp.* 2007; 68: 1144-1146.
25. Sun Y.-P., Liu Q., Luo J., Guo P., Chen F., Lawrence A.J. et al. Systemic administration of arecoline reduces ethanol-induced sleeping through activation of central muscarinic receptor in mice. *Alc.: Clin and Exp Res.* 2010; 34 (1): 150-157.
26. Taslim N., Soderstrom K., Dar M.S. Role of mouse cerebellar nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) (4) (2)- and (7) subtypes in the behavioral cross-tolerance between nicotine and ethanol-induced ataxia. *Behav. Brain Res.* 2011; 217: 282-292.

REFERENCES:

1. Antushevich A.E., Jarceva A.A., Grebenjuk A.N., Antonov V.G. Vlijanie moliksana na aktivnost' oksiditel'no-vosstanovitel'nykh processov v slizистой оболочке полости рта jeksperimental'nykh zhivotnykh pri kombinirovannom himiолучевом воздействии. *Vestn. Ross. Voен.-med. akad.* 2014; 1 (45): 152-155. (in Russian)
2. Bonitenko E.Ju., Grebenjuk A.N., Basharin V.A., Ivanov M.B., Makarova N.V. Ocenka nevrologicheskogo statusa pri ostroj alkohol'noj intoksikacii v jeksperi-

- mente. *Bjull. jeksper. biol. i med.* 2010; 3: 300-303. (in Russian)
3. Bonitenko Ju.Ju., Nepochorenko S.P., red. Ostrye otravlenija lekarstvennymi i narkoticheskimi veshhestvami. SPb.: JeLBI – SPb; 2010. (in Russian)
4. Buresh Ja., Bureshova O., H'juston Dzh. P. Metodiki i osnovnye jeksperimenty po izucheniju mozga i povedenija. M.: Nauka; 1992. (in Russian)
5. Golovko A.I. Mehanizmy farmakologicheskoy aktivnosti antideprimirujush-

- hih sredstv, dejstvujushhih na sistemy GAMK i glutaminovoj kisloty. *Biomed. zhurnal Medline.ru.* 2012, 14. Available at: http://www.medline.ru/public/pdf/13_014.pdf/ (data obrashhenija: 17.01.2015). (in Russian)
6. Golovko A.I. Otrezvljajushhie sredstva, izmenjajushhie toksidinamiku jetanola. *Biomed. himija.* 2013; 59 (6): 604-621. (in Russian)
7. Gosudarstvennyj doklad Federal'noj sluzhby po nadzoru v sfere zashhity prav

- potrebitelej i blagopoluchija cheloveka «O sostojanii sanitarno-jepidemiologicheskogo blagopoluchija naselenija Rossijskoj Federacii v 2013 godu». Available at: http://www.rosпотреbnadzor.ru/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya_sayta.pdf (data obrashhenija: 11.12.2014). (in Russian)
8. Grebenjuk A.N., Rejnjuk V.L., Haljutin D.A., Hovpachev A.A., Davydova E.V. Ocenka jeffektivnosti peptidnykh preparatov v kachestve sredstv korekcii narushenij

- funkcij central'noj nervnoj sistemy, vyzvannyh vysokimi dozami jetanola. Vestn. Ross. voen.-med. akad. 2014; 3 (47): 145–149. (in Russian)
9. Doklad Vsemimoy organizacii zdravoohraneniya «Voprosy zdravoohraneniya: alkohol». Available at: http://www.who.int/topics/alcohol_drinking/ru/ (data obrashheniya: 27.01.2015). (in Russian)
10. Doklad Federal'noj sluzhby gosudarstvennoj statistiki «Prodazha alkohol'nyh napitkov v regionah Rossijskoj Federacii». Available at: <http://www.gks.ru/dbscripts/cbsd/dbinet.cgi?pi=2705014> (data obrashheniya: 20.11.2014). (in Russian)
11. Kovalickaja Ju.A., Sadovnikov V.B., Zolotarev Ju.A., Navolockaja E.V. Stress-protektornaja aktivnost' sinteticheskogo peptida CH3CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH2 (protektina). Bioorg. himija. 2009; 35 (4): 493–500. (in Russian)
12. Lisickij D.S., Petrov A.N., Shevchuk M.K. Farmakologicheskaja korekciya nejrotoksicheskikh porazhenij u belyh krysov posle tjazhjoloy formy ostroj alkohol'noj intoksikacii. Toks. vestnik. 2013; 1: 19–23. (in Russian)
13. Luzhnikov E.A., red. Medicinskaja toksikologija: nacional'noe rukovodstvo. M.: GJeOTAR-Media; 2012. (in Russian)
14. Navolockaja E.V., Kolobov A.A., Kampe-Nemm E.A., Lipkin V.M. Sredstvo, obladajushhee antiishemicheskoy i antigipoksicheskoy aktivnost'ju. Patent RF, № 2356573; 2007. (in Russian)
15. Platonov A.E. Statisticheskij analiz v medicinine i biologii: zadachi, terminologija, logika, komp'juternye metody. M.: Izd-vo RAMN.; 2000. (in Russian)
16. Prozorovskij V.B. Statisticheskaja obrabotka rezul'tatov farmakologicheskikh issledovanij. 2007; 3–4: 2090–2120. (in Russian)
17. Markizova N.F., Epifancev A.V., Basharin V.A. Molekuljarnyj kislorod i ego aktivnye formy v processah toksikokinetiki i toksikodinamiki. SPb.: VMedA; 2004. (in Russian)
18. Federal'naja sluzhba po regulirovaniyu alkohol'nogo rynka «Potreblenie spirtnyh napitkov». Available at: http://www.fsrar.ru/policy_of_sobriety/konceptia (data obrashheniya: 20.11.2014). (in Russian)
19. Habriev R.U., red. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. M.: Medicina; 2005. (in Russian)
20. Jia X., Yan J., Xia J., Xiong J., Wang T., Chen Y. et al. Arousal effects of orexin A on acute alcohol intoxication-induced coma in rats. Neuropharm. 2012; 62 (2): 775–783.
21. Mathis K.W., Sulzer J., Molina P.E. Systemic administration of a centrally acting acetylcholinesterase inhibitor improves outcome from hemorrhagic shock during acute alcohol intoxication. Shock. 2010; 34 (2): 162–168.
22. Rico E.P., Rosemberg D.B., Senger M.R., de Bem Ariz M., Dias R.D., Souto A.A. et al. Ethanol and acetaldehyde alter NTPDase and 5'-nucleotidase from zebrafish brain membranes. Neurochem. Int. 2008; 52 (1–2): 290–296.
23. Sewald N., Jakubke H. Peptides: chemistry and biology. Wiley-VCH; 2002.
24. Shih-Jen T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4–10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome. Med. hyp. 2007; 68: 1144–1146.
25. Sun Y.-P., Liu Q., Luo J., Guo P., Chen F., Lawrence A.J., et al. Systemic administration of arecoline reduces ethanol-induced sleeping through activation of central muscarinic receptor in mice. Alc.: Clin and Exp Res. 2010; 34 (1): 150–157.
26. Taslim N., Soderstrom K., Dar M.S. Role of mouse cerebellar nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) (4) (2)- and (7) subtypes in the behavioral cross-tolerance between nicotine and ethanol-induced ataxia. Behav. Brain Res. 2011; 217: 282–292.

D.A. Halyutin¹, A.A. Hovpachev¹, A.N. Grebenyuk¹, V.L. Reynyuk¹, A.E. Antushevich¹, A.A. Kolobov²

Therapeutic efficacy of new neuropeptides and hepatoprotector molixan at acute poisonings with ethanol

¹Federal State Budgetary Military Educational Establishment of Higher Professional Education «S.M. Kirov Military Medical Academy», RF Ministry of Defense, 194044, Saint Petersburg, Russian Federation

²Federal State Unitary Institution «State Research Institute of Pure Biopreparations», Federal Medical and Biological Agency of Russia, 197110, Saint Petersburg, Russian Federation.

A comparative assessment of new peptide drugs with a common molecular structure Acetyl-Lys-Lys-Arg-Arg-amide (index KK) and molixan as correction means for CNS functional disorders evolving in toxicogenic and somatogenic stages in ethanol-intoxicated rats is presented. 40% ethanol was delivered intragastrically in a dose of 1 LD₅₀ (8 g/kg). Peptides KK₁ and KK₁₀ were administered intranasally in a dose of 40 mg/kg, molixan has been injected intraabdominally in a single dose of 30 mg/kg, 30 min. after the intoxication onset. It was found out that 1 LD₅₀ dose of ethanol delivered to rats at the intoxication toxicogenic stage disturbs the neurological status and also leads to their 44% death and delivered at the somatogenic stage, ethanol causes impairments in survived rats memory, ability to training and physical activity over two weeks after intoxication onset. When acute alcohol intoxication was corrected with peptide preparations KK₁ and KK₁₀, the rats survival was 100% and 88% when molixan was used. Along with it, the therapeutic introduction of KK₁ and KK₁₀ peptides allowed to avoid the emergency of states classified as “coma” and posed anti-amnesic effect. The use of KK line peptides and molixan accelerates restoration rates of learning ability, physical endurance and motor coordination in poisoned animals by 1.5–2 times.

Keywords: ethanol, poisoning, treatment, peptides, survival, central nervous system function.

Переработанный материал поступил в редакцию 18.03.2015 г.